

Du prélèvement au résultat : une chaîne de qualité stricte

From sampling to results : a strict chain of custody

Philippe CORTEEL⁽¹⁾, Yvan GAILLARD⁽²⁾, Gilbert PÉPIN⁽²⁾

(1) 22, rue Champ Lagarde - 78000 VERSAILLES

(2) TOXLAB, 7, rue Jacques Cartier - 75018 PARIS

(Reçu le 1^{er} février 2002 ; accepté le 4 mars 2002)

RÉSUMÉ

Le respect d'une chaîne de qualité rigoureuse est la condition nécessaire à la bonne exécution d'une démarche globale entre le médecin du travail qui demande l'analyse et un employé sur les urines duquel le laboratoire va réaliser la recherche de substances stupéfiantes. Le médecin du travail est la personne centrale autour de laquelle tout s'articule. La chaîne de qualité est la pièce indispensable qui garantit en amont des analyses, le respect de l'anonymat des échantillons, le respect du secret professionnel auquel est engagé le médecin qui seul demande, centralise et retransmet les résultats, le cadre juridique des analyses afin que le donneur signe un formulaire de consentement contresigné par le médecin collecteur, l'authenticité et l'inviolabilité des urines placées dans deux flacons auto-sertis transmis au laboratoire.

Les étapes suivantes du chaînage des échantillons sont plus classiques et concernent : la transmission des échantillons, les épreuves pré-analytiques d'adultération, l'analyse proprement dite avec ou non confirmation (incluant l'envoi en aveugle d'échantillons témoins), les conditions de conservation du deuxième flacon de contre-analyse, le rapport final transmis au médecin prescripteur.

C'est dans le respect absolu de ces règles que naîtra une mutuelle confiance entre l'employé, les partenaires sociaux et le médecin du travail d'une part et le médecin du travail et le laboratoire d'autre part.

MOTS-CLÉS

Chaîne de qualité, méthodologie, médecine du travail.

SUMMARY

The respect of a rigorous chain of custody is the necessary condition to the good execution of a total step between the occupational physician who requests the analysis and the employee whose urine will be sampled and tested for psychotropic substances. The occupational physician is the central person around whom everything articulates itself. The chain of custody is the essential part which guarantees upstream of the analyses : the respect of the anonymity of the samples, the respect of the professional secrecy to which is committed the physician who is the only authorized person to ask, centralize and retransmit the results, the legal framework of the analyses so that the donor signs a form of consent to test countersigned by the collecting officer, the authenticity and the inviolability of the urines placed in two car-crimped bottles transmitted to the laboratory. The following stages of the chaining of the samples are more traditional and relate to : the transmission of the samples, the pre-analytical tests of adulteration, the analysis itself (including the transmission of control specimens), the conditions of conservation of the second bottle and the final report transmitted to the physician.

It is in the absolute compliance with these rules that will be born a mutual confidence between the employees' federation and the occupational physician on the one hand and the physician and the laboratory on the other hand.

KEY-WORDS

Chain of custody, methodology, occupational medicine.

Introduction

La médecine du travail est une spécificité française en Europe. Le médecin du travail doit statuer sur l'aptitude du travailleur à occuper un poste et certains critères biologiques ou physiologiques sont retenus en fonction des emplois. Dans le domaine des dépistages des conduites toxicophiles, il n'y a pas de règles bien établies. Contrairement aux Etats-Unis, le dépistage systématique n'est pas en vogue en France ; toutefois la pensée française évolue.

Peut-on penser qu'un pilote d'avion puisse être sous l'emprise de cannabis ? Peut-on admettre qu'un convoyeur de fonds ait consommé de la cocaïne ? Peut-on envisager que des agents de centrale nucléaire soient sous l'emprise d'ectasy ? Qui peut être tranquille au volant lorsqu'il croise un automobiliste sous l'emprise du cannabis ou d'héroïne (1) ?

Avec le décret 2001-751 du 27 août 2001, le gouvernement français vient de prendre position en matière de sécurité routière : la recherche de produits stupéfiants et de médicaments psychotropes est obligatoire dans les accidents mortels de la circulation. Dans le domaine professionnel, hormis l'aéronautique, la pratique n'est pas codifiée. On sait que certains médecins du travail y ont recours. Pour protéger le travailleur et offrir toutes les garanties au médecin du travail tant au plan analytique que sur le plan légal, il existe une chaîne de qualité qui assure la traçabilité de l'échantillon de bout en bout, gage de sécurité pour tous les partenaires (2). Nous nous proposons de la détailler.

Le chaînage général des échantillons

Le chaînage des échantillons, c'est à dire l'ordre chronologique de l'exécution des opérations suit strictement le schéma donné dans la figure 1.

Le médecin du travail est le prescripteur de la demande d'analyse qui sera transmise au laboratoire d'analyse. Les procédures de recueil de l'échantillon ne sont pas de la responsabilité du laboratoire sauf dans le cas où la personne (l'employé ou le candidat à l'embauche) se déplacerait au sein des locaux du laboratoire sur demande expresse du médecin et où serait alors réalisé le prélèvement sous la responsabilité d'un collecteur interne au laboratoire (cf. procédure de recueil d'échantillon urinaire).

Le collecteur, c'est à dire le médecin du travail doit remplir le formulaire "Chaîne de Qualité" (voir figure 2) et notamment les sections 1, 2, 3 et 5 et faire remplir

par le donneur la section 4. Le médecin du travail expédiera (poste ou coursier) au laboratoire les échantillons d'urines accompagnés du formulaire chaîne de qualité et de la demande d'examen équivalente à une ordonnance médicale sur laquelle il aura précisé sa demande ainsi que les traitements médicaux du donneur durant les quinze derniers jours.

A la réception de cette enveloppe au sein du laboratoire d'analyse, le secrétariat enregistre la demande d'analyse, lui attribue un numéro d'ordre interne (revue de l'offre) et vérifie que les échantillons urinaires ont été étiquetés conformément au formulaire "Chaîne de Qualité", que ce formulaire est présent, qu'il a été dûment et correctement rempli et signé par les deux parties, que le formulaire "Demande d'Analyse" est présent, complété et signé par le médecin, enfin que les échantillons n'ont pas été endommagés pendant le transport. Le secrétariat remplit alors le cadre réservé à son usage sur le formulaire "Chaîne de Qualité". Il émet ensuite 6 étiquettes comportant le numéro interne de la revue de l'offre, dont une sera apposée sur le formulaire "Chaîne de Qualité", une sur le formulaire "Demande d'Analyses", une sur chaque flacon d'échantillon et une sur deux tubes à hémolyse de 5 ml destinés à la répartition en aliquotes de l'échantillon. L'enregistrement des échantillons au secrétariat est noté sur le cahier de la revue de l'appel d'offre. La traçabilité de l'arrivée au laboratoire est donc respectée.

Une fois le travail de secrétariat terminé, le dossier

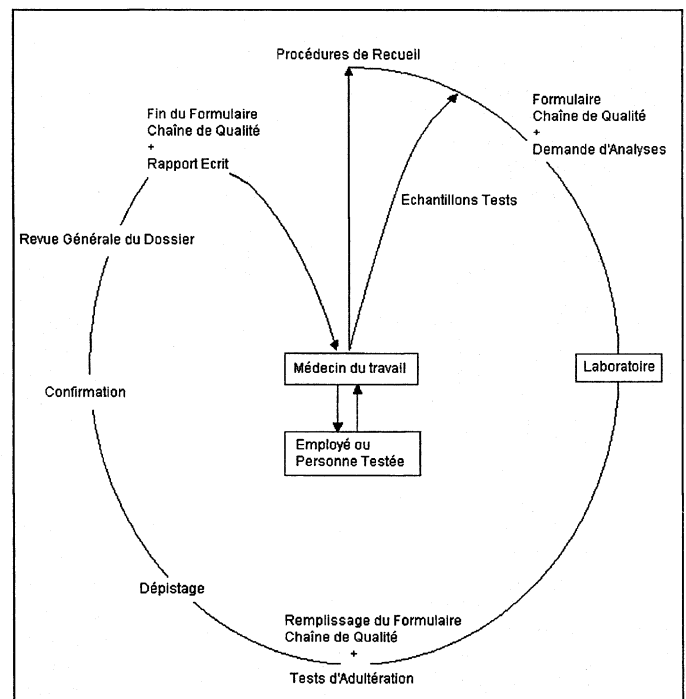


Figure 1 : Chaînage des échantillons.

entier (formulaire "Chaîne de Qualité" + formulaire "Demande d'Analyses" + échantillons + tubes internes étiquetés) est transmis au technicien chargé de l'analyse de dépistage par méthode immuno-enzymatique. Ce technicien possède un cahier de paillasse propre aux analyses réalisées dans le cadre de la médecine du travail dans lequel il va consigner tous ses résultats. La traçabilité des résultats est donc garantie.

L'analyse proprement dite débute par l'ouverture du flacon scellé à partir duquel le technicien va prélever 5 ml d'urines (déposée dans le tube étiqueté par le secrétariat) qui vont ensuite servir à la réalisation des tests d'adultération et de dépistage.

Les tests d'adultération peuvent comporter les examens suivants: pH urinaire, créatinine, glutaraldéhyde et nitrites (cf. procédure). Si tous ces tests sont conformes aux normes pour la bonne exécution de la recherche et de l'identification urinaire des drogues, le responsable de l'analyse complète la partie réservée à son usage dans le formulaire "chaîne de Qualité" et la signe afin de pouvoir procéder à la suite de l'analyse.

Les tests de dépistage immuno-enzymatique peuvent être entrepris conformément à la procédure en cours dans le laboratoire sur différents automates sur les familles suivantes (en fonction de la demande du médecin prescripteur) : cannabinoïdes, opiacés, cocaïne, amphétamines, méthadone, phencyclidine, alcool, benzodiazépines (ne comprend pas les apparentés imidazopyridine, cyclopyrrolones et autres, c'est à dire zolpidem, buspirone, suriclone, zopiclone ainsi que les benzodiazépines dont les taux thérapeutiques ne permettent pas de croiser suffisamment avec les anticorps de référence utilisés pour le dépistage: alprazolam, estazolam, 7-aminoflunitrazépam, loprazolam, lormétazépam, triazolam, clonazépam, flurazépam), barbituriques (sauf pour les barbituriques dont le taux de réactivité croisée ne permet généralement pas de détecter une consommation soit : hexobarbital, métharbital et méthohexital), antidépresseurs tricycliques (sauf les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine : fluoxétine, paroxétine, sertraline, fluvoxamine, citalopram, les inhibiteurs de la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline : milnacipran et venlafaxine, et les autres antidépresseurs : miansérine, mirtazapine, tianeptine et viloxazine).

Les résultats de la recherche sont consignés dans le cahier de laboratoire du technicien et contresigné chaque jour en bas de page par un responsable du laboratoire dans ce même cahier. Si un résultat est positif, la fiche de suivie est alors transmise à un deuxième technicien (obligatoirement différent du premier) chargé de la confirmation en chromatographie en phase

gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM). Ce technicien réalise un deuxième prélèvement de 5 ml à partir du flacon primaire initial (et non du tube aliquote déjà utilisé par le précédent technicien). A partir de ce deuxième aliquote, il va réaliser la procédure de confirmation de la ou des molécules parmi la liste des molécules (selon les familles) données dans les tableaux I, II et III.

Dans le cas où aucun de ces composés ne serait retrouvé, l'analyste procédera à une ultime injection sans dérivation des molécules et à une recherche large de tous les composés identifiables par CPG-SM avec identification de la ou des molécules contenue(s) dans l'extrait urinaire par les banques spectrales commerciales. Cette recherche a pour but de mieux connaître les interférences analytiques qui peuvent être générées par les recherches de dépistage comme par exemple la norfenfluramine, métabolite du benfluorex (Mediator®) ou la chloroquine (Nivaquine®) répondant généralement positivement aux tests immunoenzymatiques de la recherche des amphétaminiques. Cette étape possède surtout un but didactique pour le laboratoire d'analyse mais permet aussi au médecin de distinguer par exemple une prise d'opiacés majeurs d'un traitement antitussif à base de pholcodine par exemple ou d'un autre morphinomimétique.

Dans le cas où cette recherche s'avèrerait négative, il ne sera pas procédé à d'autres analyses notamment en chromatographie liquide haute performance couplée à une détection à barrette de photodiodes (CLHP-DBD) ou CLHP-SM ou CLHP-SM-SM sauf demande expresse de la part du médecin prescripteur et qui fera l'objet d'une demande séparée.

Le formulaire "Chaîne de Qualité"

Ce formulaire (figure 2) est la pièce maîtresse de la bonne exécution dans les règles de l'ensemble des analyses car il suit l'échantillon depuis son prélèvement jusqu'à la transmission finale du rapport écrit des résultats auprès du médecin qui l'a initié :

- Il est rempli et signé en présence simultanée du médecin et de la personne sur laquelle vont être analysées les urines.
- Il donne une information éclairée à la personne testée sur la nature des analyses qui seront réalisées, la personne acceptant librement la réalisation des analyses.
- Il garantit l'anonymat de la personne testée vis à vis du laboratoire.
- Il garantit l'authenticité des urines prélevées et repar-

Tableau I : Liste des familles de stupéfiants et molécules recherchées.

Cannabinoïdes	Opiacés	Cocaïne	Amphétamines	PCP
THCCOOH	6-acétyl-morphine	ecgonine ME	amphétamine	Phencyclidine
	morphine	cocaïne	metamphétamine	
	codéine	benzoylecgonine	MDA	
	pholcodine	cocaéthylène	MDMA	
	codéthylène		MDEA	
			MBDB	

Tableau II : Liste des familles des produits de substitution opiacés et molécules recherchées.

Méthadone	Buprénorphine*
méthadone	buprénorphine
EDDP	norbuprénorphine

* : cette analyse requiert la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse et non la CPG-SM.

Tableau III : Liste des familles de médicaments et molécules recherchées.

Barbituriques	Benzodiazépines	ADTC imipraminiques
amobarbital	bromazépam	amitryptiline
allobarbital	chlordiazépoxide	amoxapine
sécobarbital	clobazam	clomipramine
barbital	démoxépam	désipramine
butobarbital	diazépam	dosulépine
butabarbital	médazépam	doxépine
butalbital	midazolam	imipramine
phénobarbital	nitrazépam	maprotiline
pentobarbital	oxazépam	nordoxépine
thiopental	prazépam	nortryptiline
	nordazépam	trimipramine
	tétrazépam	
	tofisopam	

ties dans les deux tubes pour analyse.

- Il accompagne les échantillons pendant leur transport.
- Il est contresigné par le secrétariat à réception des analyses garantissant que le dossier est complet à réception.
- Il est contresigné par le technicien en charge des analyses lors de la réalisation des tests d'adultération urinaires attestant que les analyses proprement dites peuvent être entreprises.

- Enfin, il est renvoyé avec le rapport final de rendu des résultats au médecin prescripteur (un double est gardé au laboratoire).

Les termes sémantiques utilisés dans les cadres 4 : consentement du donneur et 5 : déclaration du collecteur sont précis et permettent d'éviter toute ambiguïté quant à la nature des analyses réalisées ainsi qu'à l'interprétation ultérieure, la validité et la réalité des résultats rendus.

Le recueil de l'échantillon

Le recueil des urines doit être effectué dans une pièce spécialement réservée à cet usage. Il s'agit d'une salle de prélèvement simplifiée qui comporte un cabinet de toilette sans lavabo. Le lavabo doit être impérativement cloisonné par rapport au cabinet de toilette, c'est à dire que l'on ne peut se servir de l'eau du robinet pour diluer l'échantillon. Afin de limiter autant que possible toute tentative de dilution des urines par de l'eau, le cabinet de toilette doit être pourvu d'un système qui colore fortement l'eau qui alimente le cabinet de toilette. On pourra utiliser des cubes de désinfection placés dans le réservoir et colorant l'eau en bleu ce qui ne manquera pas d'alerter le médecin collecteur si l'urine présentée est teintée en vert.

Les urines sont collectées dans un verre transparent et immédiatement transmises au médecin qui se chargera en présence du donneur à la mesure de leur température, l'estimation de la couleur et la répartition dans deux flacons autosertis inviolables sur lesquelles sera apposée une étiquette portant le numéro codé (interne à chaque établissement) et la marque d'authentification ou la signature du donneur.

Figure 2

FORMULAIRE "CHAÎNE DE QUALITÉ"

Site de l'établissement demandeur des analyses :

Le **Collecteur** remplit les parties **1, 2, 3** et **5**.
 Le **Donneur** remplit la partie **4**.

1	
Vérifier l'identité du donneur	
Cocher	

2	
Température des urines en °C	
Couleur	

3
Coller ici l'étiquette du site de l'établissement avec le numéro codé du Donneur signé ou authentifié par lui-même

4
Consentement du Donneur :
Je certifie que j'ai fourni un échantillon urinaire, lequel a été transvasé dans deux flacons fermés en ma présence, par une collerette garantissant leur inviolabilité et authentifiés par deux étiquettes portant ma signature ou une autre marque d'authentification, ainsi qu'un numéro de code identique à celui figurant sur le formulaire "chaîne de qualité" (partie N° 3). J'accepte que ces flacons soient transmis au laboratoire de toxicologie en vue d'analyses chimiques pour la recherche de drogues et/ou de médicaments.

5
Déclaration du Collecteur :
Je certifie que les échantillons identifiés sur ce formulaire ont bien été fournis par le Donneur qui a signé ou authentifié le formulaire "chaîne de qualité" et Consentement (partie N° 4, étiquette apposée sur la partie N° 3 ainsi que celles sur les deux flacons autosertis). J'atteste par ailleurs que l'échantillon d'urine a été collecté, transvasé et étiqueté en présence du Donneur.
Nom :

Signature ou authentification :
Date : ___ / ___ / ___

Signature :
Date : ___ / ___ / ___

Réservé au Secrétariat du laboratoire (échantillon conforme à la "chaîne de qualité")	
Nom :	Signature et cachet du laboratoire :
Date : ___ / ___ / ___	

Réservé au responsable de l'analyse du laboratoire de toxicologie (échantillon conforme à la "chaîne de qualité")	
Nom :	Signature :
Date : ___ / ___ / ___	

Figure 3

FORMULAIRE "DEMANDE D'ANALYSES"

Site de l'établissement demandeur des analyses :

<u>Analyses toxicologiques de routine</u>	Cocher :
Groupe 1 : Cannabis, Opiacés, Cocaïne, Amphétamines	
Alcool	
Antidépresseurs tricycliques	
Benzodiazépines	
Barbituriques	

Renseignements concernant le donneur :
Mettre la liste des spécialités pharmaceutiques que le donneur reçoit dans le cadre d'un traitement

<u>Produits de substitution des opiacés*</u>	Cocher :
Méthadone	
Buprénorphine (TEMGESIC, SUBUTEX)	

<u>Analyses toxicologiques spécialisées*</u>			
LSD		Harmine	
Psilocine		DMT (diméthyltryptamine)	
Phencyclidine		GHB (gamma-hydroxybutyrate)	
Kétamine (KETALAR)		Dextromoramide (PALFIUM)	
Scopolamine		Péthidine (DOLOSAL)	
Mescaline		Fentanyl et homologues	
Bufoténine		Etomidate (HYPNOMIDATE)	
Muscarine		Autre (préciser) :	

* tarification spéciale, voir avec le laboratoire.

Réservé au Médecin demandeur

Nom : _____ Signature et cachet du Médecin : _____

Date : ___ / ___ / ___

Réservé au laboratoire : Bon pour acceptation des analyses

Nom : _____ Signature et cachet du laboratoire : _____

Date : ___ / ___ / ___

Tests d'adultération des urines

Afin de vérifier que les urines du donneur n'ont pas été modifiées ou diluées, il sera procédé à un certain nombre de vérifications, ceci dans le strict but de garantir la qualité de l'interprétation des résultats toxicologiques.

Tests dont le médecin est responsable

Le médecin doit refuser l'échantillon urinaire du donneur si celui-ci ne respecte pas les critères suivants :

- La température mesurée immédiatement après l'émission doit être comprise entre 35 et 37° C
- la couleur des urines doit être physiologique, c'est à dire variant dans des tons de jaune.

Si ces critères ne sont pas respectés, le prélèvement doit être considéré comme non conforme (c'est à dire potentiellement adultéré) et doit donc être rejeté par le collecteur. Ce dernier en informera le donneur et prendra les mesures qui lui semblent nécessaires.

Dans ce cas, le prélèvement sera détruit et ne pourra être transmis au laboratoire de toxicologie.

Tests dont le laboratoire est responsable

Le laboratoire doit refuser de rendre un résultat d'analyse pour non conformité si les tests d'adultération ou de dilution excessive se révèlent positifs selon les critères suivants:

- Créatinine dont la concentration doit être supérieure à 0,50 g/l
- pH dont la valeur doit être comprise entre 4 et 9.

En fonction des tests disponibles soit sur automate, soit sur bandelette, un certain nombre d'autres tests peuvent être réalisés, notamment la recherche de nitrites et de glutaraldéhyde. Il appartient à chaque laboratoire de fixer lui-même ses règles en la matière et de définir quels sont les seuils qu'il doit refuser ou accepter.

Si un échantillon est jugé "non-conforme", le technicien doit le signaler sur le formulaire "Chaîne de Qualité". Les échantillons seront alors détruits. Le laboratoire enverra un rapport écrit de non conformité et le médecin prendra envers le donneur les dispositions qu'il estime nécessaires pour effectuer éventuellement un second prélèvement.

Analyses de dépistage et de confirmation

Les résultats des analyses de dépistage sont consignés

quotidiennement dans un cahier de laboratoire propre à la "médecine du travail" et contresigné en bas de page par le responsable du département analytique.

Comme nous l'avons déjà dit, chaque dépistage positif doit être confirmé par CPG-SM par un technicien différent et sur un aliquote d'urine différent de celui utilisé pour le dépistage et dont le résultat est aussi consigné et contresigné dans un cahier de laboratoire autonome et différent du précédent.

Envoi d'échantillons tests en aveugle

D'un commun accord entre le médecin et le laboratoire, il peut être décidé par le médecin d'envoyer au laboratoire en aveugle des échantillons tests afin de vérifier la qualité analytique des résultats. Ces analyses seront nécessairement à la charge du médecin prescripteur car il est la seule personne à pouvoir décider quand procéder à l'envoi de ces échantillons et le seul à en connaître la teneur. Ces échantillons d'urines tests doivent nécessairement être fiables et émaner d'organismes indépendants et reconnus et ne peuvent provenir de patients déjà testés ou d'urines tests réalisées par le médecin lui-même.

Une alternative à cette proposition serait que le laboratoire participe lui-même à des programmes de qualité tels que ceux organisés sous l'égide de la SFTA. Le médecin prescripteur pourrait alors demander au laboratoire qu'il lui fournisse copie de ses résultats de l'année précédente et de celle en cours (si ceux-ci sont disponibles au moment où la demande est faite).

Conservation des urines après analyses

Si les urines analysées se révèlent négatives sur les recherches entreprises, les deux flacons pourront être détruits ensemble une semaine après le rendu de l'analyse. Si les urines analysées se révèlent positives pour un ou plusieurs analytes demandés, le flacon ouvert pourra être détruit 1 semaine après le rendu des analyses. En revanche, le flacon de contre-analyse devra être conservé pendant une durée de 1 an dans un congélateur à -20° C. Ce congélateur doit être exclusivement réservé au stockage des urines émanant de la "Médecine du Travail". Un relevé hebdomadaire de la température doit être consigné dans un cahier, ainsi qu'une liste de l'ensemble des flacons présents à chaque instant dans le congélateur.

Conclusions

La chaîne de qualité depuis le prélèvement jusqu'au rendu final des analyses représente l'outil essentiel qui garantit dans le respect de l'individu testé la qualité du service rendu auprès du médecin prescripteur. C'est à cette seule condition que peuvent être réalisées dans un cadre légal des analyses biologiques qui ont pour but de permettre au médecin du travail de délivrer une aptitude à un poste aussi bien à l'embauche qu'en cours de travail.

Références

1. Pépin G., Mura P., Kintz P., Dumestre-Toulet V., Ghysel M.H., Goullé J.P., Gruson A., Lhermitte M.A., Lachâtre G., Marka C., Molinaro R., Tourneau J. et Vallon J.P. Recherche de stupéfiants dans le sang de conducteurs d'automobiles : résultats d'une compilation française d'expertise toxicologique. *Toxicorama* 1999 ; 1 : 12-16.
2. Corteel P. and Constant P. An energizing partnership with Exxonmobil company. *European Symposium of Workplace Drug Testing*, Remini, October 25-27, 2000.